

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **05126815 A**

(43) Date of publication of application: **21.05.93**

(51) Int. Cl.

**G01N 30/48**  
**B01J 20/20**

(21) Application number: **03313824**

(22) Date of filing: **31.10.91**

(71) Applicant: **TONEN CORP HORIGOME  
TSUNEYOSHI**

(72) Inventor: **HORIGOME TSUNEYOSHI  
OBAYASHI TAKASHI  
KAWASE TAICHIRO**

**(54) FILLER FOR CHROMATOGRAPHY**

**(57) Abstract:**

**PURPOSE:** To obtain filler for chromatography, which has high resolution, excellent acid resistance and alkali resistance and also excellent organic-solvent resistance and pressure resistance by using particles, which are obtained by chemically modifying spherical carbon-based particles having the specified specific surface area and a high carbon content rate.

**CONSTITUTION:** Filler for chromatography is obtained by chemically modifying spherical carbon-based particles. The carbon content rate of the carbonbased particle is

95weight% or more, and the specific surface area is  $5\text{m}^2/\text{g}$ - $500\text{m}^2/\text{g}$ . When the carbon content rate is less than 95weight%, S, O, H, N, metal and the like, which are impurities other than carbon, become non-specific adsorbing points, and the resolution is decreased. When the specific surface area is larger or smaller than this range, the resolution of the chromatography is decreased. The particle diameter of the carbon-based particle is not limited specifically. Thus, the resolution of the chromatography is high, and the filler has excellent acid resistance, alkali resistance, organic-solvent resistance and pressure resistance.

**COPYRIGHT:** (C)1993,JPO&Japio

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-126815

(43) 公開日 平成5年(1993)5月21日

| (51) Int.Cl. <sup>5</sup> | 識別記号 | 庁内整理番号   | F I | 技術表示箇所 |
|---------------------------|------|----------|-----|--------|
| G 0 1 N 30/48             | J    | 8506-2 J |     |        |
| B 0 1 J 20/20             | Z    | 8516-4 G |     |        |

審査請求 未請求 請求項の数1(全 8 頁)

(21) 出願番号 特願平3-313824

(22) 出願日 平成3年(1991)10月31日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成3年10月29日～10月31日 クロマトグラフィー学会主催の「平成3年度第2回クロマトグラフィー学会」において文書をもつて発表

(71) 出願人 390022998

東燃株式会社

東京都千代田区一ツ橋1丁目1番1号

(71) 出願人 591265323

堀米 恒好

新潟県新潟市大学南2丁目26番5号

(72) 発明者 堀米 恒好

新潟県新潟市大学南二丁目26番5号

(72) 発明者 大林 隆

埼玉県川越市笠幡2735-27

(72) 発明者 川瀬 太郎

埼玉県入間郡大井町西鶴ヶ岡1-4-10

(74) 代理人 弁理士 久保田 耕平 (外1名)

(54) 【発明の名称】 クロマトグラフィー用充填剤

(57) 【要約】

【目的】 分離能が高く、かつ、耐酸、耐アルカリ性が良好で、耐有機溶媒性及び耐圧性にも優れたクロマトグラフィー用充填剤を提供すること。

【構成】 炭素含有率95重量%以上、比表面積が5 m<sup>2</sup> / gないし500 m<sup>2</sup> / gの実質的に球状の炭素系粒子を化学修飾したクロマトグラフィー用充填剤を提供した。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 炭素含有率95重量%以上、比表面積が $5\text{ m}^2/\text{g}$ ないし $500\text{ m}^2/\text{g}$ の実質的に球状の炭素系粒子を化学修飾したクロマトグラフィー用充填剤。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、クロマトグラフィー用充填剤に関する。

【0002】

【従来の技術】従来より、クロマトグラフィー充填剤としては、シリカ系充填剤、有機高分子系充填剤等が用いられている。しかしながら、シリカ系充填剤は耐酸、耐アルカリ性が悪く、また、有機高分子系充填剤は耐有機溶媒性及び耐圧性が悪いという欠点を有する。

【0003】このような欠点のない充填剤として、炭素系充填剤も用いられており、さらに目的に応じて種々の官能基で修飾した炭素系充填剤が提案されている。すなわち、特公昭62-31298号には、フェノール樹脂系球状ビーズを炭化及び賦活した活性炭ビーズに無極性又は極性官能基を導入した充填剤が開示されている。また、特開昭58-41351にはメソカーボンマイクロビーズを表面アルキル化処理した充填剤が、また、特開平2-193066号には賦活したメソカーボンマイクロビーズである活性炭に無極性基又は極性官能基を導入した充填剤が開示されている。

【0004】しかしながら、活性炭は比表面積が極めて大きく、酸素やイオウ化合物のような表面化合物が存在するため、非特異的な吸着が多く、分離能が悪く、クロマトグラフィー用充填剤としては満足できるものではない。また、メソカーボンマイクロビーズは比表面積が小さいため、分離能が十分ではないという欠点を有する。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的は、分離能が高く、かつ、耐酸、耐アルカリ性が良好で、耐有機溶媒性及び耐圧性にも優れたクロマトグラフィー用充填剤を提供することである。

【0006】

【課題を解決するための手段】本願発明者らは、鋭意研究の結果、特定の比表面積及び高い炭素含有率を有する球状の炭素系粒子を化学修飾した粒子をクロマトグラフィー用充填剤に用いると、クロマトグラフィーの分離能が高く、かつ、該充填剤は耐酸、耐アルカリ性、耐有機溶媒性及び耐圧性にも優れたことを見出し本発明を完成した。

【0007】すなわち、本発明は、炭素含有率95重量%以上、比表面積が $5\text{ m}^2/\text{g}$ ないし $500\text{ m}^2/\text{g}$ の実質的に球状の炭素系粒子を化学修飾したクロマトグラフィー用充填剤を提供する。

【0008】上述のように、本発明のクロマトグラフィー用充填剤は、実質的に球状の炭素系粒子を化学修飾す

ることにより得られるものである。炭素系粒子の炭素含有率は95重量%以上、好ましくは97重量%以上であり、また、比表面積は $5\text{ m}^2/\text{g}$ ないし $500\text{ m}^2/\text{g}$ 、好ましくは $10\text{ m}^2/\text{g}$ ないし $300\text{ m}^2/\text{g}$ である。炭素含有率が95重量%未満では、炭素以外の不純物であるS、O、H、N、メタル等が非特異吸着点となり、分離能を低下させる。また、比表面積が上記範囲よりも大きくても小さくてもクロマトグラフィーの分離能が低下する。なお、粒子の比表面積はB. E. T法(Brunauer, Emmet, Tellerによる)により測定することができる。

【0009】本発明の好ましい態様においては、化学修飾される炭素系粒子は、細孔容積指数 $(10-50)/(1-50)$ が50%以上、さらに好ましくは60%以上、さらに好ましくは80%以上、総細孔容積が $0.15\text{ ml/g}$ 以上、さらに好ましくは $0.2\text{ ml/g}$ 以上、半径 $50\text{ nm}$ 以上の細孔の容積が $0.1\text{ ml/g}$ 以下、さらに好ましくは $0.05\text{ ml/g}$ 以下である。ここで、細孔容積指数 $(10-50)/(1-50)$ とは、半径が $10\text{ nm}$ ないし $50\text{ nm}$ の細孔の容積の和と半径が $1\text{ nm}$ ないし $50\text{ nm}$ の細孔の容積の和との比を意味する。細孔容積指数 $(10-50)/(1-50)$ が上記範囲にあるとクロマトグラフィーの分離能が向上する。また、炭素系粒子の総細孔容積が上記範囲にあると、溶質を適度に保持することが容易になりクロマトグラフィーの分離能が向上する。また、半径 $50\text{ nm}$ 以上の細孔の容積が上記範囲内にあると、粒子の強度が大きく、高圧下で行なう高速液体クロマトグラフィーの充填剤として用いても粒子が破壊されてクロマトグラフィーの再現性が低下するおそれがなく好ましい。なお、以上述べた炭素系粒子中の細孔容積は、窒素ガス吸着法により測定することができる。すなわち、装置としてOMICRON TECHNOLOGY社製OMNISORP360 and 100型を用い、計算はBJH法(Barret - Joyner-Halenda等により提出された方法)により求めることができる。

【0010】また、本発明に用いる炭素系粒子の粒径は、特に限定されないが、分析用として使用する場合は粒径 $1\sim100\text{ }\mu\text{m}$ 、さらに好ましくは $1\sim20\text{ }\mu\text{m}$ 程度、分取用として使用する場合は粒径 $5\sim500\text{ }\mu\text{m}$ 、さらに好ましくは $10\sim200\text{ }\mu\text{m}$ 程度がクロマトグラフィーカラムの充填剤として好ましい。

【0011】本発明に用いる炭素系粒子は、例えば、以下のようにして製造することができる。

【0012】まず、平均分子量300以上のビッチと、有機ポリマーのモノマーと重合開始剤を含む混合物を懸濁重合反応させ、生成したビーズを回収する。

【0013】ここで採用される有機ポリマーとしては実質的に球状の網状ゲルを形成することができるものであればいずれの有機ポリマーをも採用することができるが、好ましい有機ポリマーの例としてポリジビニルベンゼン、ポリトリビニルベンゼン等の芳香族ビニルポリマ

一やポリエチレンジメタクリレートを挙げることができる。

【0014】また、用いられる原料ピッチの平均分子量は好ましくは300以上、より好ましくは400以上である。平均分子量が300未満であると、上記した細孔分布特性を有する粒子を形成することが困難になる。平均分子量はクロロホルムを溶媒として一般的な手法である蒸気圧平衡法を用いて測定する。また、原料としては石油処理工程中で得られるピッチ、石炭の乾留工程で得られるピッチ、ナフタリン、ポリ塩化ビニル等から得られる合成ピッチを使用できる。

【0015】懸濁重合の条件は基本的に従来の合成樹脂製造の場合と同様である。出発時における溶媒中の有機モノマーの濃度は通常2ないし20重量%、好ましくは4ないし10重量%であり、原料ピッチの濃度は通常2ないし20重量%であり、好ましくは4ないし10重量%である。重合開始剤としては従来と同様、例えば $\alpha$ 、 $\alpha$ -アゾビスイソブチロニトリル、過酸化ベンゾイル及び2,2'-アゾビス-(2,4-ジメチルパレロニトリル)等を用いることができる。好ましい溶媒は水である。また、従来と同様、必要に応じてトルエン、キシレン、ベンゼン及びベンゾニトリルのような有機溶媒を希釈剤として用いることができる。さらに、必要に応じ、例えばポリビニルアルコール、メチルセルロースのような懸濁安定剤を加えることもできる。

【0016】有機モノマー、ピッチ及び重合開始剤並びに必要なに応じて希釈剤及び懸濁剤を溶媒中で攪拌して均一な懸濁物を生ぜしめた後(20℃以下で高速攪拌することが好ましい)、通常50℃ないし90℃で4時間ないし10時間、好ましくは60℃ないし80℃で5時間ないし8時間重合させる。

【0017】上記操作により、有機モノマーが重合し、かつ架橋して実質的に球状の有機ポリマーの網状ゲルが形成され、この網状ゲルの中にピッチが包み込まれた粒子が得られるのでこれを回収する。回収は、ろ過により行なうことができる。

【0018】次いで、このようにして得られたビーズを不融化する。不融化はビーズを空气中で250℃ないし380℃程度に数時間加熱することにより行なうことができる。

【0019】次いで、このようにして不融化したビーズを、好ましくは1100℃以上の温度下で、通常、1100℃ないし3000℃の温度下で、真空中又は、アルゴンや窒素等のような不活性雰囲気下で焼成する。焼成温度が低いと、粒子の炭素含量が本発明で規定する95重量%に到達しないおそれがある。

【0020】本発明のクロマトグラフィー用充填剤は、上述の炭素系粒子に化学修飾を施したものである。化学修飾の種類は特に限定されるものではなく、例えば、メチル基ないしブチル基若しくはアリル基のような低級ア

ルキル基又はオクタデシル基のような高級アルキル基を導入するアルキル化、アセチル基、ステアロイル基、ベンゾイル基又はカプリル基のようなアシル基を導入するアシル化、還元化(水素化)、ハロゲン化、スルホン化、アミノ化、シアノ化等種々の化学修飾が可能である。修飾の程度、すなわち、単位重量当りの粒子に導入される置換基の数は、特に限定されるものではなく、用途に応じて適宜選択することができる。例えば、粒子1g当たり5マイクロモルないし500マイクロモル程度である。

【0021】化学修飾の方法は、有機化合物に当該置換基を導入する方法として常用されている方法により行なうことができ、多くの場合、対応ハロゲン化合物と炭素系粒子を溶媒中、無水塩化アルミニウムの存在下、加熱してフリーデルークラフツ反応を行なわせることにより行なうことができる。もっとも、これに限定されるものではなく、例えばアゾ基を含む化合物のようにラジカル反応等を利用することもできる。

【0022】分離しようとする物質に応じて、適当な化学修飾を選択することにより、化学修飾されていない炭素系粒子をクロマトグラフィー用充填剤として用いた場合に比べて有意に分離能を向上させることができる。例えば、芳香族化合物を分離する場合はフェニル基を、糖類を分離する場合はアミノプロピル基を、逆相クロマトグラフィー充填剤として使用する場合はオクタデシル、オクチル、トリメチル等のアルキル基を、極性の高い試料を分離する場合はシアノプロピル基を、無機陽イオン、アミン、アミノ酸を分離する場合はスルホン基を炭素系粒子に導入するとよい。

【0023】本発明のクロマトグラフィー用充填剤は、従来のクロマトグラフィー用充填剤と同様に用いることができ、好ましくは高速液体クロマトグラフィー用充填剤、特に逆相クロマトグラフィー用充填剤、イオン交換クロマトグラフィー用充填剤、順相クロマトグラフィー用充填剤又は電子相互作用クロマトグラフィー用充填剤として用いることができる。

【0024】

【実施例】以下、実施例により本発明をより具体的に説明する。もっとも、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

【0025】実施例1、比較例1   ブチル化炭素系粒子

平均分子量600の減圧蒸留残渣油5体積%、ジビニルベンゼン5体積%、ポリビニルアルコール1重量%、アゾビスイソブチロニトリル0.25重量%、トルエン5体積%及びイオン交換水(残部)からなる混合物を20℃以下の温度下でラボラトリードパーザーを用いて高速攪拌した。次いで該混合物を攪拌しながら80℃に6時間加熱した。次いで生成したビーズをろ過により回収し、100℃で乾燥させた。次いでビーズを350℃で3時

間空气中で加熱して不融化した。これを窒素ガス雰囲気下、1500℃で焼成した。焼成後、ベンゼン中で超音波処理し、メタノール／エーテルで洗浄し、100℃で乾燥し、分級し、平均粒径20μmの炭素系粒子を得た。

【0026】得られた粒子の比表面積は42m<sup>2</sup>/gであり、炭素含有量は97.7重量%であった。

【0027】モレキュラーシーブ4Aで乾燥したニトロメタン50mlに無水塩化アルミニウム3.6gを加え溶解し、窒素気流下、炭素系粒子を2.5g加え、70℃に加熱後、17mlのニトロメタンに溶解した2.8mlの塩化ブチルを15分間かけて滴下し、窒素気流下、70℃の油浴中でさらに1時間加熱した。遠心分離で粒子を集め、240mlのアセトン、120mlの水で洗った後、150mlの6N塩酸に分散させ、30分間静置した。再び遠心を行ない、水240ml、アセトン160ml、メタノール160mlの順に洗い、3時間減圧乾燥した。

【0028】上記で得られたブチル化炭素系粒子を4mmx80mmのカラムに充填し、試料として20μlの水中に7.5μgのフェニルアラニンを含む溶液をかけ、22%メタノール/42.5mMリン酸(pH1.9)で、0.6ml/分の流速で溶離した。検出は210nmにおける吸光度を測定することにより行なった。クロマトグラフィーの理論段数及び保持時間を表1に示す。

【0029】一方、対照として、ブチル化していない未修飾炭素系粒子を用いて同様なクロマトグラフィーを行なった(比較例1)。クロマトグラフィーの理論段数及び保持時間を表1に示す。

【0030】表1に示されるように、ブチル化を施すことにより、未修飾の炭素系粒子に比べて理論段数が2.2倍に増加しており、クロマトグラフィーの分離能が高まったことがわかる。

【0031】実施例2 トリフルオロアセチル化炭素系粒子

実施例1で作製した未修飾炭素系粒子をトリフルオロアセチル化した。トリフルオロアセチル化は次のようにして行なった。モレキュラーシーブ4A(乾燥剤)で乾燥したニトロメタン50mlに無水塩化アルミニウム3.5gを加えて溶解し、窒素気流下炭素系粒子を2.5g加え、70℃に加熱後、8.5mlのニトロメタンに溶解した1.85mlのトリフロロ酢酸無水物を15分間かけて滴下、窒素気流下、70℃の油浴中でさらに1時間加熱した。その後、実施例1と同様に洗浄した。

【0032】このようにして得られたトリフルオロアセチル化炭素系粒子を用いて実施例1と同様にしてクロマトグラフィーを行なった。理論段数及び保持時間を表1

に示す。

【0033】表1に示されるように、トリフルオロアセチル化を施すことにより、未修飾の炭素系粒子に比べて理論段数が2.0倍に増加しており、クロマトグラフィーの分離能が高まったことがわかる。

【0034】実施例3

実施例1で作製した未修飾炭素系粒子をペンタフルオロベンゾイル化した。ペンタフルオロベンゾイル化は次のようにして行なった。モレキュラーシーブ4A(乾燥剤)で乾燥したニトロメタン50mlに無水塩化アルミニウム3.5gを加えて溶解し、窒素気流下、炭素系粒子を2.5g加え、90℃で加熱後、8.5mlのニトロメタンに溶解した。3.1gのペンタフルオロベンゾイルクロリドを15分間かけて滴下、窒素気流下、90℃の油浴中でさらに1時間加熱した。その後、実施例1と同様に洗浄した。

【0035】このようにして得られたペンタフルオロベンゾイル化炭素系粒子を用いて実施例1と同様にしてクロマトグラフィーを行なった。理論段数及び保持時間を表1に示す。

【0036】表1に示されるように、ペンタフルオロベンゾイル化を施すことにより、未修飾の炭素系粒子に比べて理論段数が2.6倍に増加しており、クロマトグラフィーの分離能が高まったことがわかる。

【0037】実施例4 2-シアノ-2-プロピル化炭素系粒子

100mlの枝つきフラスコ中に、実施例1で作製した未修飾炭素系粒子1.0gと、0.067gの2,2'-アゾビス(イソブチロニトリル)(AIBN)と17mlのベンゼン(モレキュラーシーブ4A(乾燥剤)で乾燥して一晩静置したもの)を入れ、窒素気流下で攪拌しながら70℃で反応させた。次いで、8時間ごとにAIBNを0.067gずつ添加しながら合計72時間反応させた。遠心分離で粒子を集め、240mlのアセトン、120mlの水で洗った後、150mlの6N塩酸に分散させ、30分間静置した。再び遠心で粒子を集め、水240ml、アセトン160ml、メタノール160mlの順に洗い、3時間減圧乾燥した。

【0038】このようにして得られた2-シアノ-2-プロピル化炭素系粒子を用いて実施例1と同様にしてクロマトグラフィーを行なった。理論段数及び保持時間を表1に示す。

【0039】表1に示されるように、2-シアノ-2-プロピル化を施すことにより、未修飾の炭素系粒子に比べて理論段数が1.3倍に増加しており、クロマトグラフィーの分離能が高まったことがわかる。

表1

|      | 理論段数                 |                  | 保持時間     |                  |
|------|----------------------|------------------|----------|------------------|
|      | 段数<br>( $N_{tr}/m$ ) | 比較例1との<br>比較 (倍) | 保持時間 (分) | 比較例1との<br>比較 (倍) |
| 比較例1 | 875                  | 1.0              | 0.8      | 1.0              |
| 実施例1 | 1875                 | 2.2              | 3.4      | 4.2              |
| 実施例2 | 1750                 | 2.0              | 3.7      | 4.6              |
| 実施例3 | 2250                 | 2.6              | 3.2      | 4.0              |
| 実施例4 | 1125                 | 1.3              | 1.4      | 1.7              |

【0040】実施例5、比較例2 プチル化炭素系粒子

焼成温度を2500℃とし、分級した粒子の平均粒径を30 $\mu$ mとすることを除き、実施例1と同様にして未修飾炭素系粒子を作製した。得られた未修飾炭素系粒子の比表面積は32m<sup>2</sup>/g、炭素含有率は100重量%であった。また、総細孔容積は0.4442 ml/gであり、細孔半径が1～10nmの細孔の容積が0.0768ml/g、10～50nmの細孔の容積が0.3569 ml/g、50nm以上の細孔の容積が0.0105 ml/gであり、従って、細孔容積指数(10-50)/(1-50)は82.3%であった。

【0041】得られた未修飾炭素系粒子を実施例1の方法によりプチル化し、実施例1と同様にしてクロマトグラフィーを行なった。また、比較のため、得られた未修飾炭素系粒子についても実施例1と同様にクロマトグラフィーを行なった(比較例2)。結果を表2に示す。

【0042】表2に示されるように、プチル化を施すことにより、未修飾の炭素系粒子に比べて理論段数が2.6倍に増加しており、クロマトグラフィーの分離能が高まったことがわかる。

【0043】実施例6 アセチル化炭素系粒子  
実施例5で作製した未修飾をアセチル化した。アセチル\*

\*化は、次のようにして行なった。モレキュラーシーブ4A(乾燥剤)で乾燥したニトロメタン30mlに無水塩化アルミニウム0.4gを窒素気流下で攪拌、溶解した。ここに減圧下で3時間乾燥した未修飾炭素系粒子1.5gを加え、90℃に加熱後、塩化アセチル0.23gを5mlのニトロメタン中に溶解した溶液を7分間で滴下し、窒素気流下で90℃でさらに1時間攪拌して反応させた。放冷後、1500rpm、3分間の遠心により炭素系粒子を集め、これを80mlのアセトンで3回、80mlの水で2回洗浄後、6N塩酸50mlに懸濁し、1時間放置した。この炭素系粒子を1500rpm、3分間で集めた後、さらに50mlの6N塩酸で1回、80mlの水で2回、80mlのアセトンで1回、80mlのメタノールで1回洗浄し、減圧下で2時間乾燥し、アセチル化炭素系粒子を得た。

【0044】得られたアセチル化炭素系粒子について、実施例1と同様にしてクロマトグラフィーを行なった。結果を表2に示す。

【0045】表2に示されるように、アセチル化を施すことにより、未修飾の炭素系粒子に比べて理論段数が2.6倍に増加しており、クロマトグラフィーの分離能が高まったことがわかる。

表2

|      | 理論段数                 |                  | 保持時間     |                  |
|------|----------------------|------------------|----------|------------------|
|      | 段数<br>( $N_{tr}/m$ ) | 比較例2との<br>比較 (倍) | 保持時間 (分) | 比較例2との<br>比較 (倍) |
| 比較例2 | 1375                 | 1.0              | 5.5      | 1.0              |
| 実施例5 | 3625                 | 2.6              | 4.7      | 0.9              |
| 実施例6 | 3625                 | 2.6              | 4.8      | 0.9              |

【0046】実施例7、比較例3 ステアロイル化炭素系粒子

焼成温度が1050℃であること及び分級した粒子の粒径が1～20 $\mu$ mであることを除き、実施例1と同様に

して未修飾炭素系粒子を作製した。得られた炭素系粒子の比表面積は455m<sup>2</sup>/g、炭素含有率は95重量%であった。

【0047】得られた未修飾炭素系粒子をステアロイル

化した。ステアロイル化は次のようにして行なった。モレキュラーシーブ4Aで乾燥したニトロメタン30mlに無水塩化アルミニウム0.4gを窒素気流下で攪拌溶解した。ここに減圧下で3時間乾燥した上記未修飾炭素系粒子1.6gを加え、70℃に加熱後、塩化ステアロイル0.87gを約7分間で滴下し、窒素気流下で70℃で1時間攪拌して反応させた。放冷後、1500rpm、3分間の遠心で炭素系粒子を集め、これを80mlのアセトンで3回、80mlの水で2回洗浄後、6N塩酸50mlに懸濁し、1時間放置した。上記と同様の遠心で炭素系粒子を集めた後、さらに50mlの6N塩酸で1回、80mlの水で2回、80mlのアセトンで1回、80mlのメタノールで1回洗浄、減圧下で2時間乾燥し、ステアロイル化炭素系粒子を得た。

【0048】試料が40μlの水中に15μgのフェニルアラニンを含む溶液であり、溶離液が22%メタノール/0.05Mリン酸緩衝液(pH1.5)であることを除き、実施例1と同様にしてクロマトグラフィーを行なった。対照として、未修飾の炭素系粒子を用いて同様にしてクロマトグラフィーを行なった(比較例3)。その結果、未修飾の炭素系粒子を用いた比較例3では理論段数が675であるのに対し、ステアロイル化した本実施例の炭素系粒子を用いた場合には理論段数が1875と約2.8倍に増え、分離能が高められたことがわかる。

【0049】実施例8、比較例4 ステアロイル化炭素系粒子

実施例7で作製したステアロイル化炭素系粒子を4mm x 80mmのカラムに充填し、クロマトグラフィーを行なった。40μlの水中に19μgのフェニルアラニン、19μgのチロシン及び7μgのトリプトファンを\*

表3

|       | 理論段数                        |                 | 保持時間    |                 |
|-------|-----------------------------|-----------------|---------|-----------------|
|       | 段数<br>(N <sub>eff</sub> /m) | 比較例5との<br>比較(倍) | 保持時間(分) | 比較例5との<br>比較(倍) |
| 比較例5  | 8950                        | 1.0             | 4.74    | 1.00            |
| 実施例9  | 17388                       | 1.9             | 4.41    | 0.93            |
| 実施例10 | 20900                       | 2.3             | 5.12    | 1.08            |

【0053】表3から明らかなように、ブチル化により分離能が高められた。

【0054】実施例11、比較例6 ブチル化炭素系粒子

実施例9で作製した未修飾炭素系粒子(比較例6)及び

\*含む溶液を試料とした。溶離液は、1%アセトニトリル/0.07%トリフロロ酢酸と、60%アセトニトリル/1%トリフロロ酢酸を20分間の直線勾配としたものであった。流速は1ml/分で、検出は214nmの吸光度を測定することにより行なった。また、対照として、未修飾の炭素系粒子を用いて同様にクロマトグラフィーを行なった(比較例4)。本実施例の結果を図1に、比較例4についての結果を図2に示す。図1及び図2から明らかなように、比較例4では明瞭に分離されていなかったチロシンとフェニルアラニンがステアロイル化した本実施例の充填剤を用いると明瞭に分離されており、分離能が向上したことがわかる。なお、図1におけるチロシンのピークが比較的シャープでないのは、チロシンの一部が分解されていたためと考えられる。

【0050】実施例9、10、比較例5 ブチル化炭素系粒子

焼成温度を2500℃とし、分級した粒子の粒径を7μmとすることを除き、実施例1と同様にして未修飾炭素系粒子を作製した。得られた炭素系粒子の比表面積は800m<sup>2</sup>/g、炭素含有率は100重量%であった。

【0051】得られた未修飾粒子を実施例1と同様にしてブチル化した(実施例9)。さらに、その一部を180℃で5時間加熱した(実施例10)。また、比較のため、未修飾炭素系粒子を180℃で5時間加熱したものも作製した(比較例5)。

【0052】これらの各炭素系粒子を充填剤として使い、試料として2μlの水中に0.75μgのフェニルアラニンを含む溶液を用い、溶離液として22%エタノール/0.05Mリン酸緩衝液(pH1.5)を用いた以外は実施例1と同様にクロマトグラフィーを行なった。結果を表3に示す。

実施例10で作製したブチル化炭素系粒子(実施例11)を用い、試料が2μlの水中に0.015μgのフェニルアラニンを含むものであることを除き、実施例9と同様にクロマトグラフィーを行なった。結果を表4に示す。

11  
表4

|       | 理論段数                 |                 | 保持時間    |                 |
|-------|----------------------|-----------------|---------|-----------------|
|       | 段数<br>( $N_{th}/m$ ) | 比較例5との<br>比較(倍) | 保持時間(分) | 比較例5との<br>比較(倍) |
| 比較例6  | 21975                | 1.0             | 2.86    | 1.00            |
| 実施例11 | 32350                | 1.5             | 3.35    | 1.17            |

12

【0055】表4から明らかなように、ブチル化により分離能が高められた。

【0056】実施例12、比較例7 オクタデシル化炭素系粒子

分級した粒子の平均粒径が $1\sim 20\mu m$ であることを除き、実施例7と同様にして炭素系粒子を作製した。得られた炭素系粒子の比表面積は $455m^2/g$ 、炭素含有率は95%であった。この炭素系粒子をオクタデシル化した。オクタデシル化は次のように行なった。モレキュラーシーブ4Aで乾燥したニトロベンゼン20mlに無水塩化アルミニウム0.53gを加え、窒素気流下で攪拌溶解した。ここに減圧下で3時間乾燥した上記未修飾炭素粒子1.6gを加え、90～100℃に加熱後5mlのニトロベンゼンに溶解した1.16gの塩化オクタデシルを激しい攪拌下に15分間かけて滴下反応させた。窒素気流下さらに1時間約90℃で反応した。放冷後、1000rpmで3分間遠心し、炭素系粒子を集めた後、80mlのアセトンで2回、80mlの水で1回洗浄した。これを50mlの2N HClに懸濁し、30分間放置後遠心し、さらに50mlの2N HClで1回、80mlの水で2回、80mlのアセトンで1回、80mlのメタノールで1回洗浄後、減圧下に2時間乾燥し、オクタデシル化炭素系粒子を得た。

【0057】得られたオクタデシル化炭素系粒子を充填剤として用い、実施例7と同様にしてクロマトグラフィーを行なった(実施例12)。また、比較のため、未修飾の炭素系粒子についても同様にクロマトグラフィーを

行なった(比較例7)。その結果、未修飾の炭素系粒子を用いた比較例7では理論段数が650であるのに対し、オクタデシル化した本実施例の炭素系粒子を用いた場合には理論段数が960に増え、分離能が高められたことがわかる。

【0058】実施例13、比較例8 オクタデシル化炭素系粒子

分級した粒子の平均粒径を $30\mu m$ とすることを除き実施例9と同様にして未修飾炭素系粒子を作製した。得られた炭素系粒子の比表面積は $32m^2/g$ 、炭素含有率は100%であった。

【0059】得られた炭素系粒子を実施例12と同様にしてオクタデシル化し、クロマトグラフィーにかけた。また、比較のため、未修飾の炭素系粒子についても同様にクロマトグラフィーを行なった(比較例8)。その結果、未修飾の炭素系粒子を用いた比較例8では理論段数が2200であるのに対し、オクタデシル化した本実施例の炭素系粒子を用いた場合には理論段数が4000に増え、分離能が高められたことがわかる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のクロマトグラフィー用充填剤を用いて行なったクロマトグラフィーの結果を示すクロマトグラム。

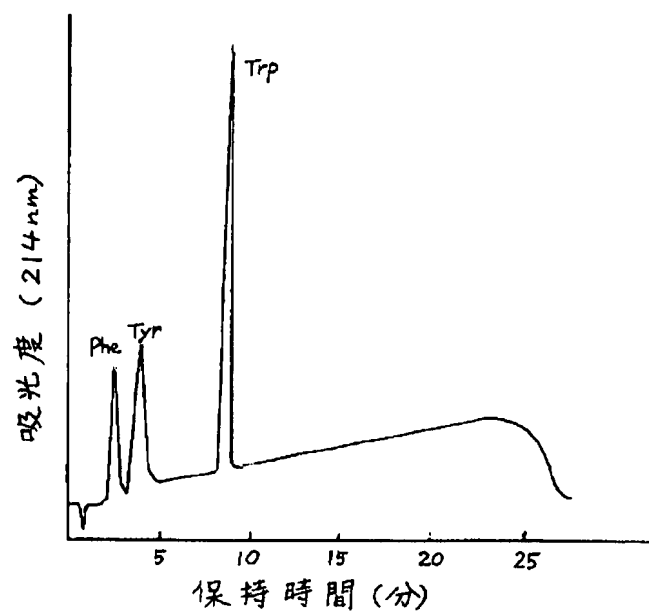
【図2】比較例のクロマトグラフィー用充填剤を用いて行なったクロマトグラフィーの結果を示すクロマトグラム。



(8)

特開平5-126815

【図1】



【図2】

